

A r c h i v
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. 131. (Dreizehnte Folge Bd. I.) Hft. 3.

XVI.

**Farbenanalytische Untersuchungen der
Harnsedimente bei Nephritis¹⁾.**

Von Prof. H. Senator in Berlin.

Die von Ehrlich ersonnene geistreiche Methode der Zellfärbung mit neutralen, einen sauren und einen basischen Farbstoff enthaltenden Mischungen, welche von ihm und Anderen für die Untersuchung des Blutes im gesunden und kranken Zustande bereits mit so vielem Erfolg verwerthet worden ist, hat bei anderen zellenhaltigen Flüssigkeiten, Se- und Excreten oder Exsudaten bisher wenig Anwendung gefunden. Nur Sputum ist in methodischer Weise mit jener Färbung untersucht worden, sonst aber liegen meines Wissens nur noch einige wenige kurze Notizen vor über eosinophile Zellen im Trippereiter und im eiterhaltigen Harn bei Cystitis oder Pyelitis und ausserdem einer Untersuchung Ehrlich's über die Zellen eines hämorrhagischen Pleuraexsudats.

Untersuchungen des Harnsediments bei Nephritis mit dieser Färbungsmethode, worüber ich im Folgenden berichte, sind, soviel mir bekannt, bis jetzt nicht mitgetheilt worden und doch schienen sie mir einigen Erfolg zu versprechen, weil die morphotischen Bestandtheile solcher Sedimente ja auch aus ver-

¹⁾ Vortrag gehalten in der Gesellschaft der Charité-Aerzte zu Berlin.

schiedenen Zellen bestehen, darunter solchen, welche den im Blute vorkommenden gleich oder sehr ähnlich sind.

Ich bediente mich zu diesen Untersuchungen theils der älteren von Ehrlich angegebenen neutrophilen Mischung¹⁾ (125 ccm gesättigte wässrige Orangelösung, 125 ccm in 20 procentigem Alkohol gelöster gesättigter Säurefuchsinlösung, 75 ccm absol. Alkohol und dazu allmählich unter Umschütteln 125 ccm gesättigter wässriger Methilgrünlösung), theils einer ganz kürzlich erst von ihm angegebenen²⁾ Mischung bestehend aus gesättigten Lösungen von: Orange G 120—135 ccm, Säure-Fuchsin 80—165 ccm, Methylengrün 125 ccm, dazu Wasser 300 ccm, Alkohol abs. 200 ccm Glycerin, 100 ccm. Mit beiden Mischungen erhält man gute Bilder, letztere hat den Vortheil, dass man die Präparate nicht so lange zu erhitzen braucht, wiewohl man auch bei der älteren Mischung mit kürzerem Erhitzen zum Ziele kommt.

Ich verfuhr nun am häufigsten so, dass ich von dem aus möglichst frischem Urin durch Absetzen oder Centrifugiren gewonnenen Sediment einen Tropfen auf einem Objectglas oder Deckgläschen ausbreitete und durch mehrmaliges Durchziehen durch eine Spiritusflamme vorsichtig zur Trockne erhitzte, ähnlich, wie man mit einem Sputum-Präparat beuf's Färbung der Tuberkelbacillen verfährt; hierauf wurde ein Tropfen der Färbeflüssigkeit auf dem Objectglas leicht verrieben, oder das Deckglas auf der Färbeflüssigkeit 10 bis 15 Minuten schwimmen gelassen und dann getrocknet. Je langsamer das Trocknen erfolgt, um so besser und sicherer gelingt im Allgemeinen die Färbung. Will man schnell färben, so kommt man auch wohl zum Ziele, wenn man das Eintrocknen durch Erwärmen beschleunigt, doch gelingen so bereitete Präparate nicht immer gut. Man kann sogar auch durch einfaches Mischen eines Tropfens Sediment mit der Färbeflüssigkeit und Trocknen noch ziemlich brauchbare Präparate bekommen. Längeres allmähliches Erhitzen auf der Kupferplatte, wie bei Blutpräparaten, habe ich einige Mal versucht, aber ohne besondere Vorzüge darin zu finden. Nach dem Trocknen wird das gefärbte Präparat erst mit Alkohol, dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen. Die so gefertigten Präparate halten sich einige Wochen. Die Färbung wird übrigens in den ersten Tagen nach dem Einschluss in Balsam häufig noch schöner und klarer, als sie an den frischen Präparaten war.

Geronnenes Eiweiss, wie es hierbei gleichsam als Grundsubstanz des Sediments in dünner Schicht sich findet, erscheint bei dieser Färbung violett, ebenso die hyalinen Cylinder, bezw. die Grundsubstanz anderer Cylinder, Hämoglobin (und rothe Blutzellen) orange, die neutrophile Körnung violett, die eosinophile kupferroth, die Kerne der Leukocyten blau oder blaugrün.

Bei der Auswahl der Fälle musste ich mir, um nur wirklich aus den Nieren stammende Sedimente zu haben, eine ge-

¹⁾ Charité-Annalen. IX. 1884. S. 110.

²⁾ Verhandl. des XI. Congresses für innere Medicin. Wiesbaden 1892. S. 35.

wisse Beschränkung auferlegen, indem ich nicht nur alle mit Affectionen der Harnwege (Nierenbecken, Blase) complicirten Fälle, sondern Weiber überhaupt ausschloss (mit einer einzigen Ausnahme), weil selbst, wenn kein ausgesprochener Fluor vorhanden ist, doch sehr leicht Vaginalsecret dem Urin sich beigemengt und dem Urin fremde Zellen zuführt. Doch habe ich behufs der Vergleichung und um nach einer gewissen Richtung hin, wovon ich gleich sprechen werde, eine Controle zu haben, in mehreren Fällen von eiterigem Katarrh der Blase und des Nierenbeckens, sowie von Blasenblutung das Sediment untersucht. Ganz ausgeschlossen von der Untersuchung wurde Sediment aus alkalischem Harn.

Die Zahl der von mir untersuchten Fälle von Nephritis beträgt 12 mit 70—80 Einzeluntersuchungen. Hiervon betreffen: Acute Nephritis 5 (darunter 3 hämorrhagische), chronische parenchymatöse und interstitielle Nephritis je 3, Stauungsnephritis 1. —

Was nun die Ergebnisse anbelangt, so zeigte sich zunächst, was ja von vornherein zu erwarten war, dass alle morphotischen Gebilde des Sedimentes in viel grösserer Klarheit als ungefärbt sich darstellten. Man hat ja auch früher mit Vortheil schon das Sediment gefärbt, um seine Bestandtheile deutlicher hervortreten zu lassen, nur nahm hierbei, da es sich nur um eine einzige Farbe handelte (z. B. bei der Färbung durch Jodtinctur), Alles, was überhaupt färbbar war, den gleichen Farbenton an und hob sich einfach von Allem, was ungefärbt blieb, ab ohne eine sonstige Differenzirung. Bei der hier beschriebenen Doppelfärbung macht sich dieser Vortheil noch mehr geltend. Es ist bekannt, dass es auch dem geübtesten Untersucher schwer werden kann zu entscheiden, ob er in einem Sediment eine im Zerfall begriffene Zelle, oder ein Häufchen Detritus oder Mikrokokken u. dgl. vor sich hat, oder einer Zelle anzusehen, welcher Natur, welchen Ursprungs sie sei. Diese Schwierigkeit wird durch die Doppelfärbung ganz erheblich gemindert, wenn nicht ganz aus dem Wege geräumt, natürlich nur soweit es sich um Gebilde, um Zellen insbesondere handelt, deren Ursprung überhaupt bekannt ist.

Man sieht also erstens, was man bisher auch schon ohne jede Färbung gesehen hat, Cylinder, Erythrocyten, Leukocyten,

Fettkörnchenzellen mit und ohne Kern, Epithelzellen nur deutlicher als sonst, insbesondere auch wohl häufiger als sonst, Zellen mit zwei Kernen und mit Kernkörperchen, welche sich von dem blaugrünen Kern durch ihre dunkelrothe Farbe deutlich abheben. Aber man muss in dieser Beziehung, in der Deutung eines Gebildes als Kernkörperchen, vorsichtig sein, namentlich nicht jeden rothen Fleck im Kern als Kernkörperchen ansprechen. Es kann sich um eine Vacuole im Kern handeln, welche die neutrophile Färbung des Protoplasmas der Zelle als kleinen violett-röthlichen Kreis oder Punkt durchschimmern lässt, oder um einen sog. „Ringkern“, durch dessen kreisförmige Oeffnung man direct das röthliche Protoplasma sieht. Gleichwohl glaube ich, oft genug sowohl in Epithelzellen, und zwar in solchen, die man ihrer Grösse und Gestalt nach als Nierenepithelien ansprechen musste, wie auch in anderen, welche als Leukocyten oder Uebergangsformen anzusehen waren (s. weiter unten), unzweifelhaft Kernkörperchen und zwar nicht selten 2 oder selbst mehr gesehen zu haben, wie es ohne Färbung wohl kaum gelungen wäre. Dass die Zellkerne in den verschiedensten Verhältnissen zum Zellenleibe sich darstellten: central, wandständig oder im Begriff, ganz aus der Zelle heraus zu treten, doppelt und dann häufig bipolar, endlich scheinbar ganz nackt, will ich nur beiläufig, weil nicht besonders merkwürdig, erwähnen.

Dagegen ist besonders zu erwähnen das Vorkommen eosinophiler Zellen, welche ich in 3 Fällen (1 von Nephritis acuta haemorrhagica mit Pemphigus der Haut, 2 von Nephritis chron. parenchymatosa) aber in recht spärlicher Zahl begegnet bin. Einzelne dieser eosinophilen Zellen erschienen im Gegensatz, so viel ich weiss, zu den bisherigen Beobachtungen, einkernig. Irgend eine Bedeutung weiss ich dem Vorkommen dieser Zellen, die man bekanntlich im Blut unter verschiedenen Verhältnissen und im Secret verschiedener Schleimhäute schon gefunden hat, nicht beizumessen.

Neu und, wie ich wohl sagen darf, überraschend war der Befund an den Leukocyten. Bisher hat man verschiedene Arten davon, wie wir sie doch im Blute kennen, in den Sedi-
menten nicht unterschieden und sie deshalb schlechtweg als

„Leukocyten“ oder als „Eiterkörperchen“ bezeichnet. Unsere Untersuchungen haben ergeben:

1) dass in der That verschiedene Formen von Leukocyten, insbesondere die beiden Hauptformen derselben, die einkernigen und mehrkernigen (mono- und polynucleären) nebst allerhand Uebergangsformen sich im Sediment finden und

2) dass die „Eiterkörperchen“, d. h. die grossen mehrkernigen Leukocyten mit neutrophiler Körnung des breiten Protoplasmaleibes in der Minderheit sind, nicht selten in so verschwindender Minderheit, dass man Mühe hat, sie in einem Präparat unter den anderen Leukocyten herauszufinden.

Die Mehrzahl der Leukocyten wird von den einkernigen („mononucleären“) Zellen gebildet, die einen schmalen violetten oder violettrothen gleichmässig gefärbten oder äusserst feinkörnigen Protoplasmasaum und grossen runden, seltener eiförmigen Kern haben. Sie kommen in verschiedener Grösse vor, von derjenigen eines normalen rothen Blutkörperchens bis fast zu der eines mehrkernigen (polynucleären) sog. Eiterkörperchens. Die kleineren Formen mit rundem Kern entsprechen vollständig den als „Lymphocyten“ bezeichneten Zellen. Die übrigen zeigen eine gewisse Mannichfaltigkeit in ihrer Grösse und Gestalt, in dem Verhältniss des Zellenleibes zum Kern, in Form, Grösse und Lage des Kerns, so dass sich allmähliche Uebergänge von den „Lymphocyten“ zu anderen Formen finden und insbesondere auch zu Zellen, welche sich von jungen Epithelzellen nicht mehr unterscheiden.

Die neutrophile Körnung, welche nach Ehrlich vorzugsweise den unter der Bezeichnung „polynucleär“ zusammengefassten Zellen (d. h. Zellen mit mehrfachem oder mit einfachem, aber verschiedentlich gekrümmten und eingebuchtetem Kern) zukommt, war auch bei den wirklich mehrkernigen, grossen Zellen mit mächtig entwickeltem Protoplasma nicht immer deutlich ausgeprägt und fand sich andererseits auch bei manchen grösseren oder kleineren Zellen mit nur einem grossen rundlichen, nicht gebuchtetem Kern. —

Ich habe jenes Verhalten der Leukocyten im Sediment über-

raschend genannt und zwar von dem bis vor Kurzem fast allgemein angenommenen Standpunkt aus, dass die Zellen in dem flüssigen Exsudat einer Entzündung aus dem Blute ausgewanderte Leukocyten sind und dass an dieser Auswanderung hauptsächlich, wenn nicht gar ausschliesslich nur die „polynucleären“ Leukocyten sich betheiligen, welche eben die „Eiterzellen“ darstellen. Man hat dies aus der grösseren Beweglichkeit der letzteren zu erklären versucht¹⁾ und kann als Stütze für diese Anschauung die bekannte Beobachtung E. Neumann's anführen, wonach bei lymphatischer Leukämie in den entzündlichen Exsudaten (dem Inhalt einer Vesicatorblase) sich nur „polynucleäre“ Zellen finden, obgleich das Blut umgekehrt wie in der Norm überwiegend mononucleäre Leukocyten (Lymphocyten) führt.

Wie ist nun dieser abweichende Befund zu erklären? Am nächsten liegt der Gedanke, dass die Zellen, welche jener herrschenden Anschauung entsprechend ursprünglich ausgewanderte „polynucleäre“ Leukocyten („Eiterkörperchen“) sind, durch die Einwirkung des Urins verändert werden, dergestalt, dass das Zellprotoplasma an Masse abnimmt, vielleicht auch die Fähigkeit, neutrophile Körnung zu zeigen, verliert, und dass aus dem mehrtheiligen, gelappten Kern ein grosser mehr oder weniger rundlicher Kern entsteht. Allein man kann sich leicht überzeugen, dass der (saure) Urin diese Wirkung nicht hat. Man braucht nur Eiter, den man mit saurem Urin vermischt hat, oder noch besser das Sediment eines sauren Urins bei eitriger Cystitis zu untersuchen und wird finden, dass die „polynucleären“ Leukocyten höchstens ein wenig geschrumpft, sonst aber mit ihren charakteristischen Eigenschaften erhalten und namentlich nicht einkernig geworden sind.

Es sind auch in anderweitigen Entzündungsprodukten schon Zellen, wie die hier in Rede stehenden, also einkernige, theils kleinere ohne neutrophile Körnung, die eigentlichen „Lymphocyten“, theils grössere mit und ohne neutrophile Körnung gefunden und über ihren Ursprung und ihre Bedeutung verschiedene Ansichten ausgesprochen worden.

Zuerst hat Ehrlich²⁾ in einem hämorrhagischen Pleura-

¹⁾ Vgl. Ehrlich in Zeitschr. f. klin. Medicin. I. 1880, S. 560.

²⁾ Charité-Ann. VII. 1882 S. 209.

exsudat ausser anderen, hier nicht interessirenden Zellen von Leukocyten beschrieben: 1) gut erhaltene polynucleäre Eiterzellen, von denen eine kleinere Zahl die neutrophile Körnung weniger dicht als normal oder gar nicht zeigte, 2) kleine Elemente, ungefähr von der Grösse der rothen Blutscheiben mit rundlichem, verhältnissmässig grossem und stark färbbarem Kern. Der grösste Theil dieser Zellen zeigt neutrophile Körnung, was, wie Ehrlich meint, beweist, „dass sie aus einer Theilung der polynucleären neutrophilen Zellen, id est, der normalen Eiterzellen hervorgegangen“. — Ueber das Mengenverhältniss dieser beiden Zellformen zu einander macht Ehrlich zwar keine Angaben, doch bestand jedenfalls eine grosse Aehnlichkeit dieses Befundes mit dem von uns in den Sedimenten erhobenen Befunde.

Ueber die Art, wie diese einkernigen Zellen aus den polynucleären (Eiterzellen) hervorgehen sollen, hat Ehrlich sich in einer anderen Mittheilung des Näheren ausgesprochen¹⁾. Hiernach erfährt bei Reizung der neutrophile Leukocyt eine Theilung seines ursprünglich eingebogenen und verschränkten Kernstabes in 3, 4 auch mehr runde Kerne. An diese durch einfache Zerreissung des Kernstabes bedingte, „directe“ Kerntheilung schliesst sich ein Theilungsprozess des Protoplasmas, der bewirkt, dass die Zelle entsprechend der Zahl der Kerne in 3 bis 4 kleine Zellen zerfällt. Dieselben ähneln im Allgemeinen sehr den Lymphocyten, auch färbt sich ihr Kern leicht und intensiv wie der der Lymphocyten, aber von diesen sind sie durch die dichte neutrophile Körnung, welche den Lymphocyten fehlt, auf's Schärfste unterschieden.

Wie man sieht, legt Ehrlich bei der Beurtheilung der Natur und Herkunft der einkernigen Leukocyten das Hauptgewicht auf das Vorhandensein der neutrophilen Körnung des Protoplasmas. Ob ihr in der That eine solche principielle Bedeutung zukommt, möchte ich für meine Person nicht entscheiden. Der Umstand, dass Ehrlich selbst in jenem Pleuraexsudat polynucleäre („Eiter“-) Zellen mit nur schwacher neutrophiler Kör-

¹⁾ Charité-Ann. IX. 1884 (Zur Kenntniss des acuten Milztumors) S. 111 und 112.

nung, oder selbst ganz ohne solche gesehen hat, könnte es doch zweifelhaft erscheinen lassen, ob die neutrophile Körnung so dauerhaft und so selbständig ist, um unter allen Umständen als Unterscheidungszeichen zu dienen. Andererseits fand Ehrlich auch unter den einkernigen Leukocyten eine kleine Zahl ohne die Körnung, über deren Herkunft er sich nicht ausspricht. Man könnte annehmen, dass diese in der von ihm geschilderten Weise eben aus jenem kleinen Theil nicht neutrophil gekörnter Eiterzellen hervorgegangen sind, wofür sich aber gar kein Beweis erbringen lässt. Auch kennen wir ja im Blut und an anderen Orten einkernige kleinere und grössere Leukocyten mit grossem Kern und ohne neutrophile Körnung und man könnte deshalb auf die Vermuthung kommen, dass diese unter Umständen aus dem Gefässsystem auswandern und eben jene im Exsudat befindlichen einkernigen Leukocyten darstellen. Hierüber sind die Ansichten getheilt, wie überhaupt über den Ursprung jener Zellen.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, auf diese Frage nach der Abstammung der einkernigen Leukocyten, der grösseren und kleineren mit und ohne farbige Körnung des Protoplasmas hier einzugehen, da sie auf ein mir ferner liegendes Gebiet führt. Eben diese Zellen, die neben den polynucleären Eiterzellen sich besonders reichlich im Granulationsgewebe und bei Wucherungsprozessen finden, waren noch in den Verhandlungen der pathologisch-anatomischen Section des letzten internationalen medicinischen Congresses (Berlin 1890) der Gegenstand eingehender Erörterungen¹⁾, ohne dass eine Einigung über alle dabei in Betracht kommenden Punkte erzielt worden wäre. Später haben noch Ribbert²⁾ und Baumgarten³⁾ sich über diese Frage auf Grund eigener Untersuchungen geäussert, ebenfalls in verschiedenem Sinne. Es werden Gründe angeführt für die Ansicht, dass die einkernigen Leukocyten oder doch ein Theil derselben durch Auswanderung aus dem Blute herkommen und wieder andere Gründe dafür, dass sie Abkömmlinge der fixen Gewebszellen oder aber wanderfähig gewordene Gewebszellen selbst seien. Das aber

¹⁾ Bd. II. 3. Abth. S. 1 ff. u. S. 90

²⁾ Centralbl. f. allg. Pathol. u. path. Anatomie. I. 1890. No. 21.

³⁾ Ebenda No. 24.

ist sicher, dass diese einkernigen Leukocyten oder Leukocyten ähnlichen Zellen erst später, als die polynucleären in dem Entzündungsheerd auftreten. Die letzteren sind bei acuten Entzündungen, in Abscessen und anderen Eiterungen die bei Weitem überwiegenden.

Unser Befund in den Harnsedimenten würde also mehr demjenigen in den späteren Stadien der Entzündung, im Granulationsgewebe gleichen. In dieser Beziehung habe ich bei meinen im Ganzen ja nicht zahlreichen Untersuchungen einen bemerkenswerthen Unterschied zwischen dem Sediment bei acuten und chronischen Nephritiden nicht gefunden. Doch ich bin weit entfernt davon, irgend einen Schluss daraus zu ziehen, da selbstverständlich Harnsedimente kein Material sind, an dem solche Fragen sich entscheiden liessen¹⁾. —

¹⁾ In der Discussion über diesen Vortrag wies Hr. O. Israel darauf hin, dass die Lymphocyten des Sediments vielleicht aus der Gewebsflüssigkeit (Lymphe) in den Nieren stammen könnten, indem diese bei Entartung und Abstossung der Harnkanälchen-Epithelien (und Cylinderbildung) in das Innere der Kanälchen gelange.
